

SPESIES MIKROFILARIA PADA PENDERITA KRONIS FILARIASIS SECARA MIKROSKOPIS DAN *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)* DI KABUPATEN TANJUNG JABUNG TIMUR

SPECIES MICROFILARIAE IN CHRONIC FILARIASIS WITH MICROSCOPIC AND POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) IN THE EAST TANJUNG JABUNG DISTRICT

Santoso* dan Nungki Hapsari Suryaningtyas

Loka Litbang P2B2 Baturaja, Jalan A. Yani KM 7 Kemelak, Baturaja, Sumatera Selatan 32111, Indoensia

*Korenspondensi Penulis : santoso@litbang.depkes.go.id

Submitted: 18-02-2015, Revised: 14-08-2015, Accepted: 30-09-2015

Abstrak

*Filariasis merupakan penyakit menular menahun yang disebabkan oleh cacing filaria. Di Indonesia terdapat 3 spesies cacing filaria yaitu; *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori*. Spesies utama yang ditemukan di Sumatera adalah *B.malayi*. Penularan filariasis melalui gigitan nyamuk dari penderita yang mengandung mikrofilaria. Penderita kronis dapat menjadi sumber penular filariasis bila masih mengandung cacing filaria dalam darahnya. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis pada penderita kronis sering tidak menemukan adanya mikrofilaria, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan dengan polymerase chain reaction (PCR). Oleh karena itu dilakukan penelitian yang bertujuan menentukan tingkat endemisitas dan status penderita filariasis kronis dan spesies mikrofilarianya secara mikroskopis dan PCR. Jumlah penduduk positif hasil pemeriksaan darah sebanyak 9 orang (Mf rate 0.31-1,75%). Pemeriksaan PCR terhadap 25 sampel mendapatkan 8 sampel positif mengandung DNA cacing filaria. Metode PCR dapat digunakan untuk membantu pemeriksaan secara mikroskopis dalam penentuan spesies mikrofilaria. Hasil sekruensing DNA mikrofilaria menunjukkan adanya spesies *B.timori* yang tidak ditemukan pada pemeriksaan secara mikroskopis.*

Kata Kunci: filariasis, *Brugia malayi*, *Brugia timori*, PCR

Abstract

*Filariasis is a chronic infectious disease caused by filarial worms. In Indonesia there are three species of filarial worm that is: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* and *Brugia timori*. The main species found in Sumatra is *B.malayi*. Filariasis transmission can occurred by mosquitoes bite of the patient containing microfilariae. Chronic sufferers can become a source of transmitting filariasis if it still contains filarial worms in his blood. Microscopic examination results in chronic sufferers often do not find the microfilariae, so that the necessary examination by polymerase chain reaction (PCR). Therefore conducted research aimed at determining the level of endemicity and status of chronic filariasis patients and its microfilariae species using microscopically and PCR. The total population of the positive results of blood tests as many as 9 people (Mf rate 0.31-1,75%). PCR on 25 samples get 8 positive samples containing DNA filarial worms. PCR methods can be used to assist in the determination by microscopic examination microfilariae species. DNA sequencing results indicate the presence of microfilariae *B.timori* species are not found on microscopic examination.*

Keywords : filariasis, *Brugia malayi*, *Brugia timori*, PCR

Pendahuluan

Filariasis (penyakit kaki gajah) adalah penyakit menular menahun yang disebabkan oleh cacing filaria. Cacing filaria dewasa pada manusia hidup di saluran dan kelenjar getah bening yang dapat menyebabkan gejala klinis akut berupa peradangan kelenjar dan saluran

getah bening. Peradangan dapat berkembang menjadi limfedema dan hidrokel yang menetap dan sukar disembuhkan dan dapat menyebabkan cacat permanen.

Filariasis di Indonesia disebabkan oleh 3 (tiga) spesies cacing filaria yaitu; *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori*.

Mikrofilaria (larva cacing filaria) mempunyai periodisitas tertentu, dan berada pada darah tepi pada waktu tertentu. Secara epidemiologi cacing filaria dibagi menjadi 6 tipe yaitu: *Wuchereria bancrofti* tipe perkotaan (urban); *Wuchereria bancrofti* tipe pedesaan (rural); *Brugia timori*; *Brugia malayi* tipe periodik nokturna; *Brugia malayi* tipe subperiodik nokturna; *Brugia malayi* tipe non periodik.

Sesuai dengan kesepakatan global dan dalam rangka eliminasi filariasis di Indonesia ditetapkan dua pilar utama program eliminasi filariasis, yaitu memutus mata rantai penularan dengan pemberian obat massal pencegahan filariasis (POMP filariasis) dan upaya mencegah dan membatasi kecacatan karena filariasis.¹ Kegiatan POMP filariasis dilakukan di daerah endemis filariasis. Penentuan daerah endemis filariasis yaitu dengan melakukan survei darah jari terhadap penduduk di desa yang ditemukan penderita kronis.

Berdasarkan laporan Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur tahun 2013 ditemukan penderita kronis filariasis sebanyak 58 kasus dengan kasus tertinggi di Kecamatan Muara Sabak Barat sebanyak 50 kasus. Untuk itu perlu dilakukan survei darah jari terhadap penduduk di kecamatan ini dalam rangka eliminasi filariasis di Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Salah satu upaya pemutusan mata rantai penularan filariasis adalah dengan mengobati penderita positif mikrofilaria dengan pengobatan selektif.

Penderita kronis merupakan sumber penular filariasis bila masih ditemukan mikrofilaria dalam darah tepi hasil survei darah jari. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis terhadap penderita kronis jarang sekali menemukan adanya cacing filaria dalam darah tepi sehingga perlu dilakukan pemeriksaan terhadap penderita kronis dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

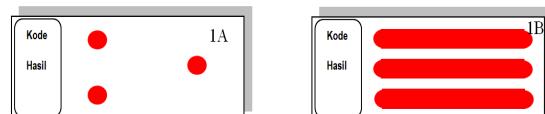
Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat endemisitas filariasis dan mengidentifikasi spesies cacing filaria pada penderita kronis dan positif hasil survei darah jari dengan pemeriksaan mikroskopis dan metode PCR.

Metode

Penelitian dilakukan di Kabupaten Tanjung Jabung Timur selama 7 bulan (Mei s.d. November 2014). Desain penelitian adalah studi potong lintang. Populasi dalam penelitian adalah seluruh penduduk yang ada di wilayah Kecamatan Muara Sabak, Kabupaten Tanjung

Jabung Timur. Survei darah jari (SDJ) dilakukan di 4 desa dengan jumlah kasus kronis, yaitu Desa Talang Babat, Nibung Putih, Parit Culum 1 dan Teluk Dawan. Sampel untuk pemeriksaan darah jari sesuai dengan pedoman Kemenkes adalah sebanyak 300 orang per desa.¹ Pemilihan sampel untuk SDJ berdasarkan kuota. Bila sampel sudah mencukupi 300 orang per desa maka SDJ dihentikan. Pengambilan darah untuk pemeriksaan PCR dilakukan setelah diperoleh hasil pemeriksaan darah secara mikroskopis. Sampel untuk pemeriksaan PCR adalah seluruh penderita kronis dan seluruh penderita positif hasil SDJ dari 4 desa terpilih yang berhasil ditemui. Pengambilan darah jari dilakukan pada malam hari dimulai pada pukul 20.00 WIB karena puncak kepadatan mikrofilaria umumnya terjadi pada malam hari. Langkah kegiatan penelitian meliputi:¹

1. Pengambilan darah jari. Dilakukan pada jari penduduk yang berusia >13 tahun. Darah yang keluar diambil dengan menggunakan pipet kapiler volume 60 μ L dan diteteskan pada kaca benda menjadi tiga tetesan dan dilebarkan dengan menggunakan ujung kaca benda yang lain sehingga membentuk spesimen darah tebal yang berbentuk tiga garis paralel (masing-masing berukuran 0,5x4 cm/20 μ L) (Gambar 1). Sediaan darah yang sudah kering diberi pewarnaan dengan giemsa 5% selama 30 menit.



Gambar 1. Cara Pembuatan Sediaan Darah Jari

Keterangan Gambar:

- 1A : tetesan darah untuk pembuatan sediaan bentuk parallel memanjang
1B : sediaan darah bentuk parallel (volume @ 20 μ L).

2. Pemeriksaan Mikroskopis. Sediaan darah yang sudah kering selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran rendah (10 x 10). Perhitungan kepadatan rata-rata mikrofilaria hasil survei darah jari di satu desa adalah angka rata-rata mikrofilaria per milliliter darah, yaitu dengan menjumlahkan semua mikrofilaria yang ditemukan dalam semua sediaan dibagi jumlah semua orang yang positif dikali faktor pengali (16,7) dengan menggunakan rumus berikut:¹

$$\text{Kepadatan rata-rata mikrofilaria} = \frac{\text{Jumlah seluruh mikrofilaria}}{\text{Jumlah orang yang positif}} \times \text{faktor pengali (16,7)}$$

3. Pemeriksaan PCR. Pemeriksaan PCR hanya dilakukan pada penderita kronis yang dilaporkan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur dan penderita positif hasil SDJ yang dilakukan selama penelitian. Pengambilan darah dilakukan pada siang hari dengan melakukan kunjungan ke rumah penderita. Sampel untuk pemeriksaan PCR dengan cara meneteskan darah pada kertas filter (*whatman*).⁹

Langkah pemeriksaan PCR dilakukan berdasarkan prosedur tetap (protop) dari beberapa sumber untuk mendapatkan suhu optimal yang sesuai.

Isolasi DNA menggunakan metode *Chelex 100*.¹⁰ Sampel DNA yang akan diisolasi berasal dari spot darah dalam potongan kertas saring. Selanjutnya gDNA yang telah diisolasi diinkubasi kedalam freezer suhu -20°C sebelum proses selanjutnya.

Proses *running* PCR menggunakan master mix reagen dengan primer *forward* HhaI (5'GCGCATAAATTCAATCAGC-3') dan primer *reverse* HhaII 5'GCGCAAAACTTAATTACAAAAGC-3').¹¹ Suhu optimasi yang digunakan untuk *running* PCR yaitu: 95°C selama 5 menit, 1 siklus; 94°C (30") : 48°C (40") : 72°C (1'), sebanyak 35 siklus dan 25°C selama ∞. Sampel selanjutnya dibaca dengan elektroforesis. Pembacaan dan analisa hasil positif apabila terbentuk band/pita pada 322 bp, 644 bp atau 966 bp.¹⁰ Sampel positif kemudian dilakukan sekuensing untuk menentukan spesies mikrofilaria. Sekuensing DNA dilakukan oleh petugas laboratorium di Lembaga Eijkman Jakarta.¹²

Hasil

Pengambilan Darah Jari

Dari pengambilan darah jari terhadap 1.209 penduduk menemukan 9 orang positif mikrofilaria (termasuk 1 penderita kronis) dengan *Mf rate* antara 0,31-1,73% dan kepadatan mikrofilaria berkisar antara 50-451 ekor per mL darah (Tabel 1).

Spesies mikrofilaria hasil pemeriksaan mikroskopis seluruhnya adalah *Brugia malayi*. Hasil penelitian menemukan satu orang penderita kronis yang positif hasil pemeriksaan darah secara mikroskopis (Tabel 2).

Jumlah penderita kronis yang dilaporkan oleh Puskesmas Muara Sabak pada tahun 2012

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Secara Mikroskopis per Desa di Kecamatan Muara Sabak Kabupaten Tanjung Jabung Timur

Kelurahan	Jumlah Penduduk Diperiksa	Jumlah Positif (Orang)	Mf Rate (%)	Kepadatan Rata-Rata Mikrofilaria (per mL darah)
Nibung Putih	288	5	1,74	451
Talang Babat	301	2	0,66	67
Teluk Dawan	300	1	0,33	234
Parit Culum 1	320	1	0,31	50
TOTAL	1.209	9	0,74	297

Tabel 2. Karakteristik Penderita Positif Filariasis Hasil Pemeriksaan Mikroskopis di Kecamatan Muara Sabak Kabupaten Tanjung Jabung Timur

No	Desa	Umur dan Jenis Kelamin		Status Penderita (Kronis/Positif)	Spesies Mikrofilaria
		Pria	Wanita		
1.	Nibung Putih	30 th		P	<i>Brugia malayi</i>
2.	Nibung Putih	50 th		K & P	<i>Brugia malayi</i>
3.	Nibung Putih		60 th	P	<i>Brugia malayi</i>
4.	Nibung Putih	60 th		P	<i>Brugia malayi</i>
5.	Nibung Putih	45 th		P	<i>Brugia malayi</i>
6.	Talang Babat	14 th		P	<i>Brugia malayi</i>
7.	Talang Babat		62 th	P	<i>Brugia malayi</i>
8.	Parit Culum		55 th	P	<i>Brugia malayi</i>
9.	Teluk Dawan	27 th		P	<i>Brugia malayi</i>

Keterangan:

K = Penderita Kronis; P = Penderita Positif

sebanyak 51 orang tersebar di 7 desa.¹³ Jumlah penderita kronis yang dilaporkan di lokasi penelitian sebanyak 44 orang dan yang datang pada saat pemeriksaan darah sebanyak 7 orang. Hasil pemeriksaan slide mendapatkan 1 orang penderita kronis masih ditemukan adanya cacing filaria dalam darahnya.

Hasil pemeriksaan PCR

Penderita kronis dan penduduk yang positif mikrofilaria dilakukan pengambilan darah ulang untuk pemeriksaan dengan metode PCR. Jumlah penderita yang diperiksa darahnya untuk pemeriksaan PCR sebanyak 25 orang, meliputi 18 penderita kronis, 6 penderita positif dan 1 penderita kronis dan positif mikrofilaria. Penderita kronis dan positif lainnya tidak berhasil diambil darahnya karena beberapa hal, diantaranya tidak berada di rumah, pindah alamat, dan tidak bersedia diambil darahnya. Hasil pemeriksaan PCR disajikan dalam Gambar 2 dan Tabel 3.

Tabel 3. memperlihatkan bahwa seluruh penderita yang dinyatakan positif mikrofilaria hasil pemeriksaan mikroskopis juga positif hasil PCR. Ditemukan 1 orang penderita kronis dengan hasil negatif pada pemeriksaan mikroskopis dan positif dengan pemeriksaan PCR.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa hasil elektroforesis menunjukkan adanya *band* (pita) pada 8 sampel, yaitu pada 327 bp. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat 8 sampel yang positif mengandung DNA cacing filaria.

Tabel 3. Karakteristik Penderita dan Hasil Pemeriksaan Mikroskopis dan PCR di Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2014

Nomor Subyek	Status Penderita		Hasil Pemeriksaan		Ket.
	Kronis	Non Kronis	Slide	PCR	
1	Kronis		-	+	
2		Non Kronis	+	+	
3	Kronis		-	-	
4	Kronis		-	-	
5	Kronis		-	-	
6	Kronis		+	+	Penderita Kronis & Positif Slide
7	Kronis		-	-	
8	Kronis		-	-	
9	Kronis		-	-	
10	Kronis		-	-	
11	Kronis		-	-	
12	Kronis		-	-	
13	Kronis		-	-	
14	Kronis		-	-	
15	Kronis		-	-	
16	Kronis		-	-	
17	Kronis		-	-	
18		Non Kronis	+	+	
19	Kronis		-	-	
20		Non Kronis	+	+	
21		Non Kronis	+	+	
22		Non Kronis	+	+	
23		Non Kronis	+	+	
24	Kronis		-	-	
25	Kronis		-	-	

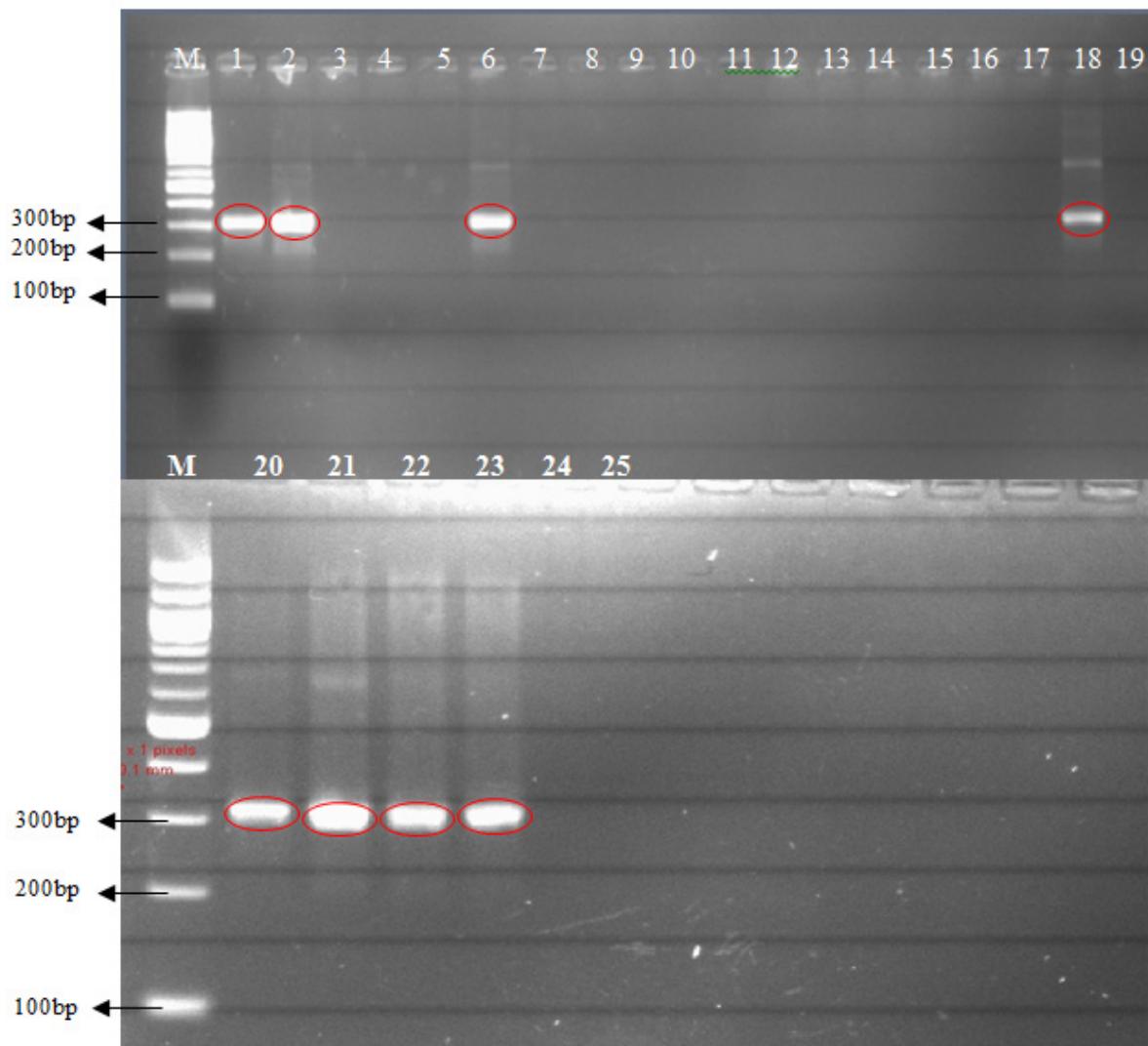
Hasil Sekuensing DNA Sampel Positif Mikrofilaria

Hasil isolasi DNA setelah ditemukan adanya sampel positif hasil PCR selanjutnya dilakukan *sekuensing* untuk mengetahui spesies mikrofilaria. Hasil sekuensing terhadap 8 sampel DNA positif mikrofilaria mendapatkan 6 sampel positif *B.malayi* dan 2 sampel positif *B.timori* (Gambar 3 dan 4).

Pembahasan

Kabupaten Tanjung Jabung Timur merupakan daerah endemis filariasis hingga saat ini meskipun kegiatan pengobatan massal untuk mencegah penyebaran filariasis telah dilakukan. Jumlah penderita filariasis terus meningkat dengan ditemukannya penderita baru hasil survei darah jari. Jumlah penderita kronis yang dilaporkan di Kecamatan Muara Sabak tahun 2012 sebanyak 51 orang¹³ meningkat menjadi 60 orang dengan ditemukannya kasus baru hasil penelitian ini. Hasil penelitian ini menunjukkan Kabupaten Tanjung Jabung Timur masih merupakan daerah endemis filariasis karena masih ditemukan desa dengan *Mf rate* >1%, meskipun terjadi penurunan *Mf rate* dibandingkan tahun 2012 dari 2% menjadi 1,74%. Hasil pemeriksaan PCR juga menunjukkan masih ditemukannya cacing filaria dalam tubuh penderita kronis yang telah mendapatkan pengobatan. Penderita filariasis yang positif merupakan sumber penular yang dapat menyebarkan cacing filaria ke penduduk lain bila tidak segera mendapat pengobatan selektif.

Filariasis *B.malayi* masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia karena bersifat subperiodik nokturnal. Filariasis tipe ini dapat berada di darah tepi pada malam dan siang hari, tetapi lebih banyak ditemukan pada malam hari. Filariasis tipe ini juga merupakan zoonotik, yaitu dapat hidup dan berkembang dalam hewan sebagai *host* (inang) dan dapat menularkan pada manusia.¹⁴ Masih ditemukannya penderita positif mikrofilaria dengan kepadatan yang cukup tinggi merupakan salah satu faktor penularan filariasis masih terjadi di Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Filariasis lebih banyak menyerang penderita pria dibandingkan dengan wanita. Hal ini berkaitan dengan perilaku penduduk pria yang lebih sering keluar rumah pada waktu malam hari sehingga lebih berisiko untuk digigit nyamuk yang mengandung mikrofilaria.¹⁵⁻¹⁷



Gambar 2. Hasil Amplifikasi PCR (Positif Mikrofilaria) Sampel Spot Darah Penderita Kronis dan Positif Hasil SDJ di Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2014. M (marker); Sampel Positif DNA Mikrofilaria: 1 (Sampel Penderita Kronis), 2,6,18,20,21,22,23 (Sampel Positif SDJ).

Brugia cf. malayi ex canine Kadakkarappally 2 Hhal repeat region
Sequence ID: gbl:IN601137.1 | Length: 326 | Number of Matches: 1

Gambar 3. Hasil Sekuensing Terhadap Penderita Positif B.Malayi Hasil PCR di Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2014

Gambar 4. Hasil Sekuensing terhadap Penderita Positif *B. timori* Hasil PCR di Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2014

Hasil pemeriksaan dengan metode PCR dan sekuen sing DNA mikrofilaria menemukan adanya 2 sampel dengan spesies *B.timori*. Spesies filariasis yang ditemukan di Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi adalah *B.malayi* sedangkan *B.timori* belum pernah ditemukan sebelumnya.¹⁸⁻²²

Hasil wawancara terhadap penderita positif mikrofilaria baik *B.malayi* maupun *B.timori* diketahui bahwa penderita bukan merupakan penduduk pribumi. Seluruh penderita adalah transmigran yang berasal dari Pulau Jawa dan sudah menetap puluhan tahun. Penderita filariasis *B.timori* berusia 39 dan 50 tahun. Kedua penderita sudah tinggal di lokasi penelitian lebih dari 30 tahun dan mengaku belum pernah mengalami gejala filariasis. Berdasarkan riwayat kedua penderita tersebut kemungkinan penderita terkena filariasis di lokasi penelitian. Ditemukannya 2 penderita filariasis *B.timori* merupakan hal baru yang belum pernah ditemukan sebelumnya di Provinsi Jambi khususnya dan di Pulau Sumatra pada umumnya. Berdasarkan literatur spesies filariasis *B.timori* hanya ditemukan di Provinsi Nusa Tenggara Timur.³

Ditemukannya spesies *B.timori* di Kabupaten Tanjung Jabung Timur perlu ditelusuri lebih jauh tentang riwayat penderita filariasis *B.timori* ini untuk mengetahui penyebaran filariasis *B.timori* di Kabupaten Tanjung Jabung serta di Sumatera. Hasil penelitian yang dilakukan di Pulau Alor pemeriksaan mikrofilaria secara PCR dapat menggunakan antibodi spesifik yang dikembangkan untuk pemeriksaan pada *B.timori*.²³

Meskipun spesies yang ditemukan berbeda antara *B.malayi* dan *B.timori* namun untuk pengobatannya menggunakan jenis obat dan dosis yang sama. Perbedaan yang mungkin dapat ditimbulkan adalah efek samping dari pengobatan. Efek samping pengobatan dipengaruhi oleh kepadatan mikrofilaria di dalam darah. Semakin besar kepadatannya maka semakin besar efek samping yang ditimbulkan.²⁴ Hasil perhitungan kepadatan rata-rata mikrofilaria di dalam darah ditemukan bahwa kepadatan mikrofilaria lebih tinggi pada penderita filariasis *B.timori* dibandingkan *B.malayi*. Adanya efek samping yang lebih tinggi pada penderita filariasis *B.timori* akan mengakibatkan kepatuhan penderita untuk minum obat akan rendah sehingga perlu adanya pendampingan atau pengawasan minum obat bagi penderita.

Kesimpulan

Kabupaten Tanjung Jabung Timur masih merupakan daerah endemis filariasis dengan spesies mikrofilaria yang ditemukan adalah *B.malayi* dan *B.timori*. Pemeriksaan mikrofilaria menggunakan metode PCR dapat mendukung pemeriksaan secara mikroskopis terutama dalam penentuan spesies mikrofilaria. Ditemukan adanya penderita kronis dengan hasil pemeriksaan mikroskopis negatif dan setelah dikonfirmasi dengan PCR ditemukan adanya DNA mikrofilaria.

Saran

Perlu dilakukan kegiatan pengobatan massal selama 5 tahun terhadap seluruh

penduduk. Perlu peningkatan kemampuan petugas mikroskopis dalam mendeteksi spesies mikrofilaria agar hasil pemeriksaan dapat akurat. Mengingat spesies *B.timori* belum pernah ditemukan di wilayah Sumatera, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi kemungkinan penyebaran filariasis *B.timori* ke wilayah lain.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada: Kepala Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat; Para Panitia Pembina Ilmiah PTIKM; Kepala Loka Litbang P2B2 Baturaja; Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur beserta staf; serta seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama kegiatan penelitian.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan. Pedoman Eliminasi Filariasis di Indonesia. *Pedoman Penentuan dan Evaluasi Daerah Endemis Filariasis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2012.
2. Soedarto. Penyakit-penyakit Infeksi di Indonesia. Jakarta: Widya Medika, 1990.
3. Departemen Kesehatan. Pedoman Program Eliminasi Filariasis di Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2008.
4. Santoso, Oktarina R, Ambarita LP, Sudomo. Epidemiologi Filariasis di Desa Sungai Rengit Kecamatan Talang Kelapa Kabupaten Banyuasin Tahun 2006. Buletin Penelitian Kesehatan. 2008;36(2):59-70.
5. Santoso. Periodisitas Parasit Filariasis di Desa Karya Makmur Kecamatan Lubuk Rajam Kabupaten OKU Timur Pada Tahun 2007. Jurnal Ekologi Kesehatan. 2010;9(1):1178-83.
6. Sudjadi FA. Habitat Alami *Brugia malayi* non periodik penyebab filariasis di Kalimantan Timur. Berita Kedokteran Masyarakat. 1996;XXI(1).
7. Dinkes Kab. Tanjung Jabung Timur. Laporan Tahunan Bidang Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Tahun 2012. Muara Sabak: Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur; 2013.
8. WHO. Lymphatic Filariasis. A Manual for National Elimination Programmes. Geneva: World Health Organization; 2011.
9. Laboratorium Parasitologi Badan Litbangkes RI. Modul Pelatihan Diagnosis Molekuler Malaria. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2011.
10. Laboratorium PCR Loka Litbang P2B2 Baturaja. Laporan Hasil Praktek PCR. Baturaja: Loka Litbang P2B2 Baturaja; 2013.
11. Hayuningtyas D, Subekti DT. Deteksi Mikrofilaria/Larva Cacing *Brugia malayi* pada Nyamuk dengan *Polymerase Chain Reaction*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 2008; 13(3): 240-8.
12. Asih PBS. Modul Workshop Polymerase Chain Reaction in Molecular Diagnostics. Jakarta: Lembaga Eijkman; 2012.
13. Puskesmas Muara Sabak. Laporan Program Pengendalian Penyakit Filariasis Puskesmas Muara Sabak. Muara Sabak: Pusat Kesehatan Masyarakat Muara Sabak; 2013
14. Utari CS. Varian Pahangi dan Kalimantan *Brugia malayi* subperiodik nocturnal (Nematoda: Filarioidea) penyebab filariasis. Berkala Ilmu Kedokteran. 2005. 37(3): 112-20.
15. Chesnais CB, Missamou F, Pion SD, Bopda J, Louya F, Majewski AC, Fischer PU, Weil GJ, Boussinesq M. *A case study of risk factors for lymphatic filariasis in the Republic of Congo*. [internet]. Parasites & Vectors. 2014, 7:300. doi:10.1186/1756-3305-7-300. [cited 2014 Jun 07]. Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/300>.
16. Juriastuti P, Kartika M, Djaja IM, Susanna D. Faktor Risiko Kejadian Filariasis di Kelurahan Jati Sampurna. Makara Kesehatan. 2010; 14(1): 31-6
17. Klei TR, TV Rajan (eds.). *World class Parasites*: Volume 5. The Filaria. Host factors, parasite factors, and external factors involved in the pathogenesis of filarial infections. [internet]. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publisher, 2002. [cited 2008 Dec 29]. Available from: <http://kluweronline.com> and <http://ebooks.kluweronline.com>.
18. Santoso, Oktarina R, Ambarita LP, Sudomo. Epidemiologi Filariasis di Desa Sungai Rengit Kecamatan Talang Kelapa Kabupaten Banyuasin Tahun 2006. Buletin Penelitian Kesehatan. 2008; 36(2):59-70.
19. Santoso. Periodisitas Parasit Filariasis di Desa Karya Makmur Kecamatan Lubuk Rajam Kabupaten OKU Timur Pada Tahun 2007. Jurnal Ekologi Kesehatan. 2010;9(1):1178-83.
20. Yahya, Santoso. Studi Endemisitas Filariasis di Wilayah Kecamatan Pemayung Kabupaten Batanghari Pasca Pengobatan Massal Tahap III. Buletin Penelitian Kesehatan. 2013;41 (1):18-25
21. Santoso, Taviv Y. Situasi Filariasis Setelah Pengobatan Massal di Kabupaten Muaro Jambi, Jambi. Buletin Penelitian Kesehatan. 2014; 42 (3): 153-160.
22. Pahlepi RI, Santoso, Putra DE. Survei Darah Jari Filariasis di Desa Batumarta X Kecamatan Madang Suku III Kabupaten Ogan Komering Ulu (OKU) Timur, Sumatera Selatan Tahun 2012. Media Penelitian Kesehatan. 2014; 24(3): 117-122.
23. Fischer P, Supali T, Maizels. Abstract. Lymphatic filariasis and *Brugia timori*: prospects for elimination. [internet] PubMed. Trend Parasitol. 2004; 20(8):351-5. [cited 2014 Feb 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- pubmed/15246315
24. Supali T, Ismid IS, Ruckert P, Fischer P. Treatment of *Brugia timori* and *Wuchereria bancrofti* infections in Indonesia using DEC or a combination of DEC and albendazole: adverse reactions and short-term effects on microfilariae. *Tropical Medicine and International Health*. [internet]. 2002; 7(10):894-901. [cited 2014 Feb 17]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3156.2002.00921.x/pdf>